

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
  - TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
  - FADED TEXT
  - ILLEGIBLE TEXT
  - SKEWED/SLANTED IMAGES
  - COLORED PHOTOS
  - BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- 
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭63-303998

⑬ Int.Cl.<sup>4</sup>C 07 K 7/10  
A 61 K 37/02

識別記号

A B L  
A B N

庁内整理番号

8318-4H

⑭ 公開 昭和63年(1988)12月12日

※  
審査請求 未請求 請求項の数 31 (全19頁)

⑮ 発明の名称 新規な A N F 誘導体

⑯ 特 願 昭63-122190

⑰ 出 願 昭63(1988)5月20日

優先権主張 ⑱ 1987年5月21日 ⑲ 米国(US) ⑳ 053,166

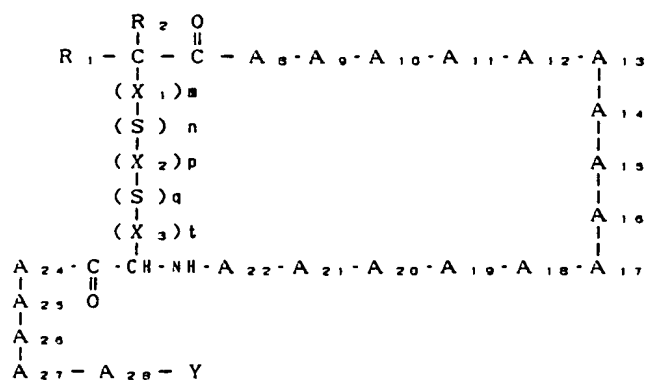
⑳ 発 明 者 ジャッド エム. バー アメリカ合衆国 45215 オハイオ州 シンシナチ ウェ  
マン ントワース アベニュー 14㉑ 発 明 者 チニスター エフ. ハ アメリカ合衆国 45220 オハイオ州 シンシナチ 309デ  
スマン ザ サード イキシミス アベニュー 727㉒ 出 願 人 メレルダウフアーマス アメリカ合衆国 45215 オハイオ州 シンシナチ イー  
ーテイカルズ インコ スト ガルブレイスロード 2110  
ーポレーテッド㉓ 代 理 人 弁理士 佐々井 弥太郎 外1名  
最終頁に続く

## 明 細 書

1. 発明の名称 新規な A N F 誘導体

2. 特許請求の範囲

1. 式



〔式中〕

R<sub>1</sub>は、水素又は C<sub>1-6</sub>アルキル、又は次の式の基

であり、ここで

R<sub>3</sub>及び R<sub>4</sub>は各々独立に水素又はアミノ保護基であり、R<sub>5</sub>は1〜10個のアミノ酸残基のポリペプチドであり、R<sub>2</sub>は水素又は C<sub>1-6</sub>アルキルであるが、但し R<sub>1</sub>と R<sub>2</sub>が各々アルキルであるときは、これらは独立な鎖であるか、又はこれらは結合している炭素原子と一緒に環状アルキルを形成することができ、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、及び X<sub>3</sub>は各々独立に C<sub>1-6</sub>アルキレン基であり、

m、n、p、q、及び t はそれぞれ独立に 0 又は 1 の整数を表わし、

A<sub>8</sub>は結合、Phe、N-置換 C<sub>1-6</sub>アルキル Phe、α-C 置換 C<sub>1-6</sub>アルキル Phe、又は D-Phe であり、A<sub>9</sub>は結合、Gly 又は Ala、N-置換 C<sub>1-6</sub>アルキル-Gly 又は -Ala、α-C 置換 C<sub>1-6</sub>アルキル-Gly 又は -Ala、又は D-Ala であり、A<sub>10</sub>は結合、Gly 又は Ala、N-置換 C<sub>1-6</sub>アルキル-Gly 又は -Ala、α-C 置換 C<sub>1-6</sub>アルキル-Gly 又は -Ala、

又はD-Alaであり、

A<sub>11</sub>は結合、Arg、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、又はD-Argであり、

A<sub>12</sub>は結合、Ile、Nle、Met；N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ile、-Nle、又は-Met；α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ile、-Nle、又は-Met；又はD-Ile、D-Nle、D-Metであり、

A<sub>13</sub>は結合、Asp又はGlu、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Asp又は-Glu、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Asp又は-Glu、又はD-Asp又はD-Gluであり、

A<sub>14</sub>は結合、Arg、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、又はD-Argであり、

A<sub>15</sub>は結合、Ile、Nle、又はMet、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ile、-Nle、又は-Met、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ile、-Nle、又は-Met、又はD-Ile、D-Nle、又はD-Metであり、

A<sub>16</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

A<sub>17</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-G

A<sub>25</sub>は結合、Ser、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルSer、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルSer、又はD-Serであり、

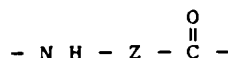
A<sub>26</sub>は結合、Phe、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルPhe、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルPhe、又はD-Pheであり、

A<sub>27</sub>は結合、Arg、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、又はD-Argであり、

A<sub>28</sub>は結合、Tyr、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルTyr、α-C置換C<sub>1-4</sub>Tyr、又はD-Tyrであり、

Yは-OH、C<sub>1-6</sub>アルコキシ、アミノ、モノ-又はジ-C<sub>1-4</sub>アルキル置換アミノであり、

上で「A」として命名される、1又はそれ以上のアミノ酸残基又はその誘導体は、1又はそれ以上の式



の二価の基によって置き換えられ、式中ZはC<sub>2-2</sub>アルキレンであり、但し上で「A」として命名されるアミノ酸残基又はそれらの誘導体が結合で

ly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

A<sub>18</sub>は結合、Gln又はAsn、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gln又は-Asn、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gln又は-Asn、又はD-Gln又はD-Asnであり、

A<sub>19</sub>は結合、Ser又はThr、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ser又は-Thr、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ser又は-Thr、又はD-Ser又はD-Thrであり、

A<sub>20</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

A<sub>21</sub>は結合、Leu又はNle、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Leu又は-Nle、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Leu又は-Nle、又はD-Leu又はD-Nleであり、

A<sub>22</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly、又は-Ala、又はD-Alaであり、

A<sub>24</sub>は結合、Asn又はGln、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルAsn又はGln、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルAsn又はGln、又はD-Asn又はD-Glnであり、

あるのは5個を超えることはなく、式1の化合物が約500nM未満のANF受容器に対する結合定数によって特徴付けられている]の化合物又はその製薬上受け入れられる無毒の塩。

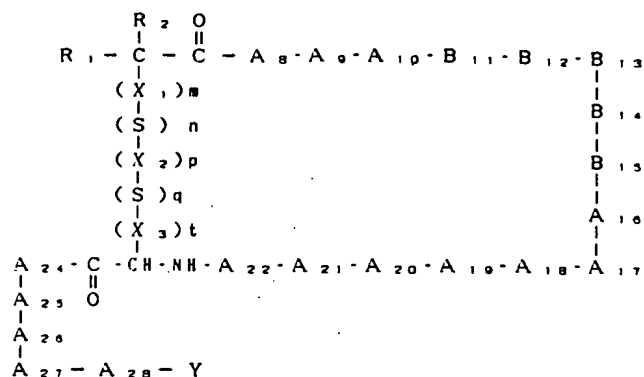
2. R<sub>3</sub>がSer、Ser-Ser、Arg-Ser-Ser、Arg-Arg-Ser-Ser、Leu-Arg-Arg-Ser-Ser、又はSer-Leu-Arg-Arg-Ser-Serである特許請求の範囲第1項に記載の化合物。

3. X<sub>1</sub>とX<sub>3</sub>がメチレンであり、m、n、q、及びtが1であり、pが0である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。

4. X<sub>1</sub>とX<sub>3</sub>がメチレンであり、X<sub>2</sub>がエチレンであり、m、p、及びtが1であり、n及びqが0である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。

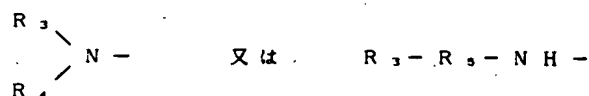
5. X<sub>1</sub>がシクロペンチレンであり、X<sub>3</sub>がメチレンであり、m、n、q、及びtが1であり、pが0である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。

6. 式



の化合物〔式中

$R_1$ は、水素又は $C_{1-6}$ アルキル、又は次の式の基



であり、ここで

$R_3$ 及び $R_4$ は各々独立に水素又はアミノ保護基であり、

$B_{12}$ は結合、Ile、Nle、Met；N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Ile、-Nle、又は-Met； $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Ile、-Nle、又は-Met；又はD-Ile、D-Nle、D-Metであり、

$B_{13}$ は結合、Asp又はGlu、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Asp又は-Glu、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Asp又は-Glu、又はD-Asp又はD-Gluであり、

$B_{14}$ は結合、Arg、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルArg、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキルArg、又はD-Argであり、

$B_{15}$ は結合、Ile、Nle、又はMet、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Ile、-Nle、又は-Met、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Ile、-Nle、又は-Met、又はD-Ile、D-Nle、又はD-Metであり、

$A_{16}$ は結合、Gly又はAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

$A_{17}$ は結合、Gly又はAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

$A_{18}$ は結合、Gln又はAsn、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-G

$R_5$ は1~10個のアミノ酸残基のポリペプチドであり、

$R_2$ は水素又は $C_{1-6}$ アルキルであるが、但し $R_1$ と $R_2$ が各々アルキルであるときは、これらは独立な鎖であるか、又はこれらは結合している炭素原子と一緒に環状アルキルを形成することができ、 $X_1$ 、 $X_2$ 、及び $X_3$ は各々独立に $C_{1-6}$ アルキレン基であり、

$m$ 、 $n$ 、 $p$ 、 $q$ 、及び $t$ はそれぞれ独立に0又は1の整数を表わし、

$A_8$ は結合、Phe、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルPhe、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキルPhe、又はD-Pheであり、

$A_9$ は結合、Gly又はAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

$A_{10}$ は結合、Gly又はAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

$B_{11}$ は結合、Arg、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルArg、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキルArg、又はD-Argであり、

$I_n$ 又は-Asn、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gln又は-Asn、又はD-Gln又はD-Asnであり、

$A_{19}$ は結合、Ser又はThr、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Ser又は-Thr、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Ser又は-Thr、又はD-Ser又はD-Thrであり、

$A_{20}$ は結合、Gly又はAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

$A_{21}$ は結合、Leu又はNle、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Leu又は-Nle、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Leu又は-Nle、又はD-Leu又はD-Nleであり、

$A_{22}$ は結合、Gly又はAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又は-Ala、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly、又は-Ala、又はD-Alaであり、

$A_{24}$ は結合、Asn又はGln、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Asn又は-Gln、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキル-Asn又は-Gln、D-Asn又はD-Glnであり、

$A_{25}$ は結合、Ser、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルSer、 $\alpha$ -C置換 $C_{1-4}$ アルキルSer、又はD-Serであり、

$A_{26}$ は結合、Phe、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルPhe、 $\alpha$ -C

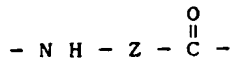
置換 C<sub>1-4</sub>アルキル Phe、又は D-Pheであり、

A<sub>27</sub>は結合、Arg、N-置換 C<sub>1-4</sub>アルキル Arg、α-C  
置換 C<sub>1-4</sub>アルキル Arg、又は D-Argであり、

A<sub>28</sub>は結合、Tyr、N-置換 C<sub>1-4</sub>アルキル Tyr、α-C  
置換 C<sub>1-4</sub>Tyr、又は D-Tyrであり、

Yは-OH、C<sub>1-6</sub>アルコキシ、アミノ、モノ-又はジ-  
C<sub>1-4</sub>アルキル置換アミノであり、

上で「A」として命名される、1又はそれ以上の  
アミノ酸残基又はその誘導体は、式



(式中 Z は C<sub>2-24</sub>アルキレンである) の 1 又はそれ  
以上の二価の基によって置き換えられ、但し上で  
「A」として命名されるアミノ酸残基又はそれら  
の誘導体が結合であるのは5個を越えない) 又は  
その製薬上受け入れられる無毒の塩。

7. R<sub>3</sub>が Ser、Ser-Ser、Arg-Ser-Ser、Arg-Arg-  
Ser-Ser、Leu-Arg-Arg-Ser-Ser、又は Ser-Leu-Ar

13. 化合物を非経口的に投与する特許請求の範  
囲第 11 項に記載の薬剤。

14. 治療上有効量が約 0.5 μg/Kg/日 ~ 約 50 mg/Kg  
/日である特許請求の範囲第 11 項に記載の薬剤。

15. 特許請求の範囲第 1 又は 6 項の化合物と 1 又  
はそれ以上の製薬上受け入れられる担体を混合し  
たものからなる組成物。

16. 単位投与形である特許請求の範囲第 15 項  
に記載の組成物。

17. 化合物の量が約 10 μg ~ 約 100 mg である特許  
請求の範囲第 16 項に記載の組成物。

18. A<sub>8</sub>が Phe、A<sub>9</sub>が Gly、A<sub>10</sub>が Gly、A<sub>11</sub>が Arg、  
A<sub>12</sub>が Ile、A<sub>13</sub>が Asp、A<sub>14</sub>が Arg、A<sub>15</sub>が Ile、  
A<sub>16</sub>が Gly、A<sub>17</sub>が Ala、A<sub>18</sub>が Gln、A<sub>19</sub>が Ser、  
A<sub>20</sub>が Gly、A<sub>21</sub>が Leu、A<sub>22</sub>が Gly、A<sub>23</sub>が Arg、  
A<sub>24</sub>が Tyr、R<sub>1</sub>が H-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>が H、(X<sub>1</sub>)  
■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が -CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が 24 から 28  
の位置をを占めているスペーサー基であり、Y が  
NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第 1 項に記載の化合物。

8-Arg-Ser-Ser である特許請求の範囲第 1 項に記  
載の化合物。

8. X<sub>1</sub>と X<sub>3</sub>がメチレンであり、m、n、q、  
及び t が 1 であり、p が 0 である特許請求の範囲第  
1 項に記載の化合物。

9. X<sub>1</sub>と X<sub>3</sub>がメチレンであり、X<sub>2</sub>がエチレン  
であり、m、p、及び t が 1 であり、n 及び q が 0  
である特許請求の範囲第 1 項に記載の化合物。

10. X<sub>1</sub>がシクロヘキシレンであり、X<sub>3</sub>がメチ  
レンであり、m、n、q、及び t が 1 であり、p  
が 0 である特許請求の範囲第 1 項に記載の化合物。

11. 特許請求の範囲第 1 又は第 6 項の化合物の  
治療有効量を含むしている体液、電解質、血圧、  
眼圧、リニニン、又はアルドステロンの恒常性  
における異常によって特徴付けられる病気の症状の  
処置剤。

12. 病気の症状が、高血圧、腎臓病、過アルド  
ステロン、心臓肥大、緑内障、及び動脈性心不全  
からなる群から選ばれる特許請求の範囲第 11 項  
に記載の薬剤。

19. A<sub>11</sub>が Arg、A<sub>12</sub>が Ile、A<sub>13</sub>が Asp、A<sub>14</sub>が  
Arg、A<sub>15</sub>が Ile、A<sub>16</sub>が Gly、A<sub>17</sub>が Ala、A<sub>18</sub>が  
Gln、A<sub>19</sub>が Ser、A<sub>20</sub>が Gly、A<sub>21</sub>が Leu、A<sub>22</sub>が  
Gly、A<sub>24</sub>が Asn、A<sub>25</sub>が Ser、A<sub>26</sub>が Phe、A<sub>27</sub>が  
Arg、A<sub>28</sub>が Tyr、R<sub>1</sub>が H-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>が H、  
(X<sub>1</sub>)■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が -CH<sub>2</sub>-S-S-  
CH<sub>2</sub>-であり、アミノオクタン酸の二価の基が 8 か  
ら 10 の位置をを占めているスペーサー基であり、  
Y が -NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第 1 項に記載の化  
合物。

20. A<sub>8</sub>が Phe、A<sub>9</sub>が Gly、A<sub>10</sub>が Gly、A<sub>11</sub>が Arg、  
A<sub>12</sub>が Ile、A<sub>13</sub>が Asp、A<sub>14</sub>が Arg、A<sub>15</sub>が Ile、  
A<sub>16</sub>が Gly、A<sub>20</sub>が Gly、A<sub>21</sub>が Leu、A<sub>22</sub>が Gly、  
A<sub>24</sub>が Asn、A<sub>25</sub>が Ser、A<sub>26</sub>が Phe、A<sub>27</sub>が Arg、  
A<sub>28</sub>が Tyr、R<sub>1</sub>が H-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>が H、(X<sub>1</sub>)  
■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が -CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が 17 から 19  
の位置をを占めているスペーサー基であり、Y が  
NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第 1 項に記載の化合物。

21. A<sub>8</sub>が Phe、A<sub>9</sub>が Gly、A<sub>10</sub>が Gly、A<sub>11</sub>が Arg、

A<sub>12</sub>がIle、A<sub>13</sub>がAsp、A<sub>14</sub>がArg、A<sub>15</sub>がIle、  
A<sub>16</sub>がGly、A<sub>17</sub>がAla、A<sub>18</sub>がGln、A<sub>19</sub>がSer、  
A<sub>24</sub>がAsn、A<sub>25</sub>がSer、A<sub>26</sub>がPhe、A<sub>27</sub>がArg、  
A<sub>28</sub>がTyr、R<sub>1</sub>がH-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>がH、(X<sub>1</sub>)  
■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が20から22  
の位置をを占めているスペーサー基であり、Yが  
NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。  
22. A<sub>8</sub>がPhe、A<sub>9</sub>がGly、A<sub>10</sub>がGly、A<sub>11</sub>がArg、  
A<sub>12</sub>がIle、A<sub>13</sub>がAsp、A<sub>14</sub>がArg、A<sub>15</sub>がGln、  
A<sub>16</sub>がSer、A<sub>20</sub>がGly、A<sub>21</sub>がLeu、A<sub>22</sub>がGly、  
A<sub>24</sub>がAsn、A<sub>25</sub>がSer、A<sub>26</sub>がPhe、A<sub>27</sub>がArg、  
A<sub>28</sub>がTyr、R<sub>1</sub>がH-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>がH、(X<sub>1</sub>)  
■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が15から17  
の位置をを占めているスペーサー基であり、Yが  
NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。  
23. A<sub>8</sub>がPhe、A<sub>9</sub>がGly、A<sub>10</sub>がGly、A<sub>11</sub>がArg、  
A<sub>12</sub>がIle、A<sub>13</sub>がAsp、A<sub>14</sub>がArg、A<sub>15</sub>がIle、  
A<sub>16</sub>がSer、A<sub>20</sub>がGly、A<sub>21</sub>がLeu、A<sub>22</sub>がGly、

■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が14から16  
の位置をを占めているスペーサー基であり、Yが  
NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。  
26. A<sub>8</sub>がPhe、A<sub>9</sub>がGly、A<sub>10</sub>がGly、A<sub>11</sub>がArg、  
A<sub>12</sub>がIle、A<sub>13</sub>がAsp、A<sub>14</sub>がArg、A<sub>15</sub>がIle、  
A<sub>16</sub>がGly、A<sub>24</sub>がAsn、A<sub>25</sub>がSer、A<sub>26</sub>がPhe、  
A<sub>27</sub>がArg、A<sub>28</sub>がTyr、R<sub>1</sub>がH-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>  
がH、(X<sub>1</sub>)■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH  
2-S-S-CH<sub>2</sub>-であり、アミノオクタン酸の二価の基  
が17から19及び20から22の位置をを占めているス  
ペーサー基であり、Yが-NH<sub>2</sub>である特許請求の範  
囲第1項に記載の化合物。

27. A<sub>8</sub>がPhe、A<sub>9</sub>がGly、A<sub>10</sub>がGly、A<sub>11</sub>がArg、  
A<sub>12</sub>がIle、A<sub>13</sub>がAsp、A<sub>14</sub>がArg、A<sub>15</sub>がIle、  
A<sub>16</sub>がGly、A<sub>17</sub>がAla、A<sub>18</sub>がGln、A<sub>19</sub>がSer、  
A<sub>20</sub>がGly、A<sub>21</sub>がLeu、A<sub>22</sub>がGly、A<sub>24</sub>がAsn、  
A<sub>26</sub>がTyr、R<sub>1</sub>がH-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>がH、(X<sub>1</sub>)  
■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が25から27

A<sub>24</sub>がAsn、A<sub>25</sub>がSer、A<sub>26</sub>がPhe、A<sub>27</sub>がArg、  
A<sub>28</sub>がTyr、R<sub>1</sub>がH-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>がH、(X<sub>1</sub>)  
■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が18から18  
の位置をを占めているスペーサー基であり、Yが  
NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。  
24. A<sub>8</sub>がPhe、A<sub>9</sub>がGly、A<sub>10</sub>がGly、A<sub>11</sub>がArg、  
A<sub>12</sub>がIle、A<sub>13</sub>がGly、A<sub>17</sub>がAla、A<sub>18</sub>がGln、  
A<sub>19</sub>がSer、A<sub>20</sub>がGly、A<sub>21</sub>がLeu、A<sub>22</sub>がGly、  
A<sub>24</sub>がAsn、A<sub>25</sub>がSer、A<sub>26</sub>がPhe、A<sub>27</sub>がArg、  
A<sub>28</sub>がTyr、R<sub>1</sub>がH-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>がH、(X<sub>1</sub>)  
■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が11から13  
の位置をを占めているスペーサー基であり、Yが  
NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。  
25. A<sub>8</sub>がPhe、A<sub>9</sub>がGly、A<sub>10</sub>がGly、A<sub>11</sub>がArg、  
A<sub>12</sub>がIle、A<sub>13</sub>がAsp、A<sub>17</sub>がAla、A<sub>18</sub>がGln、  
A<sub>19</sub>がSer、A<sub>20</sub>がGly、A<sub>21</sub>がLeu、A<sub>22</sub>がGly、  
A<sub>24</sub>がAsn、A<sub>25</sub>がSer、A<sub>26</sub>がPhe、A<sub>27</sub>がArg、  
A<sub>28</sub>がTyr、R<sub>1</sub>がH-Ser-Ser-NH-、R<sub>2</sub>がH、(X<sub>1</sub>)

の位置をを占めているスペーサー基であり、Yが  
NH<sub>2</sub>である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。  
28. A<sub>8</sub>がPhe、A<sub>11</sub>がArg、A<sub>12</sub>がN-Me-Ile、A  
13がAsp、A<sub>14</sub>がArg、A<sub>15</sub>がN-Me-Ile、A<sub>27</sub>がD-  
Arg、R<sub>1</sub>がH、R<sub>2</sub>がH、(X<sub>1</sub>)■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)  
q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>-であり、アミノペンタ  
ン酸の二価の基が9から10の位置をを占めている  
スペーサー基であり、アミノウンデカン酸の二価  
の基が18から19の位置をを占めているスペーサー基、  
アミノオクタン酸の二価の基が20から22及び24か  
ら26の位置をを占めているスペーサー基、Yが-NH<sub>2</sub>  
である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。  
29. A<sub>8</sub>がPhe、A<sub>9</sub>がGly、A<sub>10</sub>がGly、A<sub>11</sub>がArg、  
A<sub>12</sub>がN-Me-Ile、A<sub>13</sub>がAsp、A<sub>14</sub>がArg、A<sub>15</sub>が  
N-Me-Ile、A<sub>27</sub>がD-Arg、A<sub>28</sub>がTyr、R<sub>1</sub>がH、R  
2がH、(X<sub>1</sub>)■-(S)n-(X<sub>2</sub>)p-(S)q-(X<sub>3</sub>)t-が-CH  
2-S-S-CH<sub>2</sub>-であり、アミノウンデカン酸の二価の  
基が18から19の位置をを占めているスペーサー基  
であり、アミノオクタン酸の二価の基が20から22  
及び24から28の位置をを占めているスペーサー基、

Y が  $-NH_2$  である特許請求の範囲第 1 項に記載の化合物。

30.  $A_9$ がN-Me-Phe、 $A_{10}$ がGly、 $A_{11}$ がGly、 $A_{12}$ がArg、 $A_{13}$ がN-Me-Ile、 $A_{14}$ がAsp、 $A_{15}$ がArg、 $A_{16}$ がN-Me-Ile、 $A_{17}$ がD-Arg、 $A_{18}$ がTyr、 $R_1$ がH-Ser-Ser-NH-、 $R_2$ がH、 $(X_1)_m-(S)_n-(X_2)_p-(S)_q-(X_3)_t$ が $-CH_2-S-S-CH_2-$ であり、アミノウンデカン酸の二価の基が16から18の位置を占めているスパーサー基、アミノオクタン酸の二価の基が20から22及び24から26の位置を占めているスパーサー基、Yが $-NH_2$ である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。

31.  $A_{11}$ がArg、 $A_{12}$ がIle、 $A_{13}$ がAsp、 $A_{14}$ がArg、 $A_{15}$ がIle、 $A_{16}$ がGly、 $A_{27}$ がArg、 $A_{28}$ がTyr、 $R_1$ がH-Ser-Ser-NH-、 $R_2$ がH、 $(X_1)_m-(S)n-(X_2)_p-(S)q-(X_3)_t$ が $-CH_2-S-S-CH_2-$ であり、アミノオクタン酸の二価の基が8から10、17から19、20から22、及び24から26の位置をを占めてい  
るスペーサー基であり、Yが $-NH_2$ である特許請求の範囲第1項に記載の化合物。

血管平滑筋を含めた種々の組織中で特定の結合位置に結合することが知られおり、親和性は約50ピコモル (pM) ~ 500ナノモル (nM) である【ニードルマン、ハイパーテンション (Hypertension)、7、469、(1985)】。更に、ANFは脳の特異的な受容器に結合し、おそらく神経モジュレーター (調節剤) 並びに慣用の末梢ホルモンとしての役目をする。

ANFペプチドの生物学的な性質は、強力な利尿剤／ナトリウム利尿剤及び血管拡張剤／血圧低下活性並びにリーニン及びアルドステロン分泌に対する阻害効果が含まれる〔デボルド、サイエン ス 230、767（1985）〕。従ってANF及びANF様生物活性を有する類似体は、体液、電解質、血圧、眼圧、リーニン又はアルドステロンホルモンにおける異常によって特徴付けられる病気症状にかかっている患者に効果的な治療を提供し、例えば以下に限られるものではないが、高血圧症、腎臓病、過アルドステロン症、心臓肥大、緑内障及び腎血性心不全にかかった患者の治療に効果的

### 3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

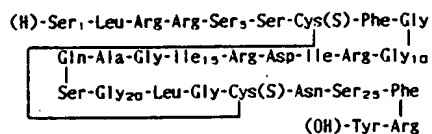
動物の細胞外体液の自然な調節は種々のホルモンの性及び神経機構の複雑な相互作用を伴うことが知られている。最近、心房によって製造されるポリペプチドホルモンが体のナトリウム、水及び血圧の恒常性の調節に於いて重要な役割を成すことが示されている。このポリペプチドホルモンは心房ナトリウム利尿性因子 (ANF) と呼ばれているが、又カージオナトリン及びアトリオペプチンとも呼ばれている。便宜の為此の物質は、本明細書では ANF と呼ぶ。

A N F ペプチドのファミリーは、単離されており、それらのアミノ酸配列が決定されている。これらの A N F ペプチドは 21~126 のアミノ酸の長さで変化し、共通する構造的な特徴は 1 又はそれ以上のジスルフィドでループを作った 17 のアミノ酸配列であり、種々のアミノ及びカルボキシ末端配列がシステイン部分についている。

A N F ペプチドは、腎臓、副腎、大動脈、及び

な治療を与える。

28のアミノ酸からなる生物活性ANF断片は、ラットの心房組織から単離され次の配列を有している。



式中アミノ酸 Ser<sub>1</sub> はアミノ末端残基を表わし、Ty  
r<sub>28</sub> はカルボキシ末端残基を表わし、個々のアミ  
ノ酸はアミノ末端からカルボキシ末端へ番号付け  
されている連続した数字の位置によって識別され  
る。このペプチドは rANF<sub>1-28</sub> と呼ばれる。同  
様の生物活性を有する対応するペプチド断片は、  
人の心房組織から単離されており、12の位置の  
「Ile」が「Met」によって置き換えられていると  
うことについてだけ rANF<sub>1-28</sub> と異なる（ニード  
ルマンら、ハイパーテンション 7、469（1985）

〕。対応する人のANFペプチドは、ここではhANF<sub>1-28</sub>と呼ぶ。

出願人は、ANF受容器に効果的に結合し、ANF様の生物効果を示すある種の新規な化合物を本発明において発見した。これらの化合物は、体液、電解質、血圧、眼圧、リーニン又はアルドステロン恒常性における異常によって特徴付けられる病気症状、例えば限定されるものではないが、高血圧症、腎臓病、過アルドステロン症、心臓肥大、緑内障及び腎血性心不全にかかっている患者の治療に有用な薬剤である。

本発明は、新規な化合物及びその製剤組成物に関する。本発明の別の面は、これらの新規な化合物を体液、電解質、血圧、眼圧、リーニン又はアルドステロン恒常性における異常によって特徴付けられる病気症状、例えば限定されるものではないが、高血圧症、腎臓病、過アルドステロン症、心臓肥大、緑内障及び腎血性心不全にかかっている患者の治療にこれらの新規な化合物を使用する薬剤に関するものである。

R<sub>3</sub>及びR<sub>4</sub>は各々独立に水素又はアミノ保護基であり、

R<sub>5</sub>は1~10個のアミノ酸残基のポリペプチドであり、

R<sub>2</sub>は水素又はC<sub>1-6</sub>アルキルであるが、但しR<sub>1</sub>とR<sub>2</sub>が各々アルキルであるときは、これらは独立な鎖であるか、又はこれらは結合している炭素原子と一緒に環状アルキルを形成することができ、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、及びX<sub>3</sub>は各々独立にC<sub>1-6</sub>アルキレン基であり、

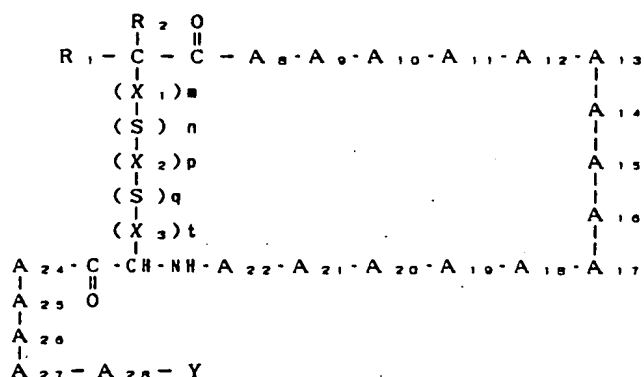
m、n、p、q、及びtはそれぞれ独立に0又は1の整数を表わし、

A<sub>8</sub>は結合、Phe、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルPhe、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルPhe、又はD-Pheであり、

A<sub>9</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

A<sub>10</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

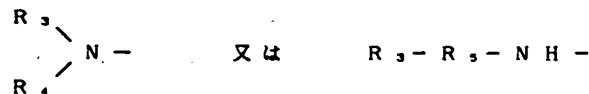
より詳しくは、本発明は式1の化合物を提供する



(1)

〔式中

R<sub>1</sub>は、水素又はC<sub>1-6</sub>アルキル、又は次の式の基



であり、ここで

A<sub>11</sub>は結合、Arg、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、又はD-Argであり、

A<sub>12</sub>は結合、Ile、Nle、Met；N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ile、-Nle、又は-Met；α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ile、-Nle、又は-Met；又はD-Ile、D-Nle、D-Metであり、

A<sub>13</sub>は結合、Asp又はGlu、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Asp又は-Glu、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Asp又は-Glu、又はD-Asp又はD-Gluであり、

A<sub>14</sub>は結合、Arg、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、又はD-Argであり、

A<sub>15</sub>は結合、Ile、Nle、又はMet、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ile、-Nle、又は-Met、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ile、-Nle、又は-Met、又はD-Ile、D-Nle、又はD-Metであり、

A<sub>16</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

A<sub>17</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、



又はD-Alaであり、

A<sub>1a</sub>は結合、Gln又はAsn、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gln又は-Asn、又はD-Gln又はD-Asnであり、

A<sub>1b</sub>は結合、Ser又はThr、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ser又は-Thr、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Ser又は-Thr、又はD-Ser又はD-Thrであり、

A<sub>2a</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、又はD-Alaであり、

A<sub>2b</sub>は結合、Leu又はNle、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Leu又は-Nle、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Leu又は-Nle、又はD-Leu又はD-Nleであり、

A<sub>2c</sub>は結合、Gly又はAla、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly又は-Ala、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキル-Gly、又は-Ala、又はD-Alaであり、

A<sub>2d</sub>は結合、Asn又はGln、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルAsn又はGln、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルAsn又はGln、D-Asn又はD-Glnであり、

A<sub>2e</sub>は結合、Ser、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルSer、α-C

置換C<sub>1-4</sub>アルキルSer、又はD-Serであり、

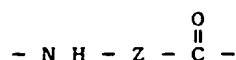
A<sub>2f</sub>は結合、Phe、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルPhe、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルPhe、又はD-Pheであり、

A<sub>2g</sub>は結合、Arg、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、α-C置換C<sub>1-4</sub>アルキルArg、又はD-Argであり、

A<sub>2h</sub>は結合、Tyr、N-置換C<sub>1-4</sub>アルキルTyr、α-C置換C<sub>1-4</sub>Tyr、又はD-Tyrであり、

Yは-OH、C<sub>1-6</sub>アルコキシ、アミノ、モノ-又はジ-C<sub>1-4</sub>アルキル置換アミノであり、

上で「A」として命名される、1又はそれ以上のアミノ酸残基又はその誘導体は、1又はそれ以上の式



の二箇の基によって置き換えられ、式中ZはC<sub>2-24</sub>アルキレンであり、但し上で「A」として命名されるアミノ酸残基又はそれらの誘導体が結合であるのは5個を超えることはなく、式1の化合物が約500nm未満のANF受容器に対する結合定数によって特徴付けられている。又はその製薬上

受け入れられる無毒の塩を提供する。

本発明の別の具体例で、体液、電解質、血圧、眼圧、リーニン又はアルドステロン恒常性における異常によって特徴付けられる病気症状、例えば限定されるものではないが、高血圧症、腎臓病、過アルドステロン症、心臓肥大、緑内障及び鬱血性心不全にかかった患者の治療方法が提供される。この治療方法は、その患者に治療上有効量の式1の化合物又はその製薬上受け入れられる無毒の塩を投与することからなる。そのような病気症状にかかった患者の治療を実施するに当り、式1の化合物は、経口的又は非経口的に有効量で生体に利用できるようにするような任意の方法で投与できる。一般に非経口投与が好ましく、例えば皮下、筋肉内、静脈内、皮膚を通して、鼻内、直腸内などを含む。

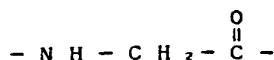
本発明の別の具体例に於いて、式1の化合物を投与する製剤組成物が提供される。これらの組成物は、治療上有効量の1又はそれ以上の式1の化合物を1又はそれ以上の製薬上受け入れられる担

体と共に含む。

次のアミノ酸の一般的な省略名称が明細書を通じて使用される。

Ala	-	アラニン
Asn	-	アスパラギン
Asp	-	アスパラギン酸
Arg	-	アルギニン
Cys	-	システイン
Gln	-	グルタミン
Glu	-	グルタミン酸
Gly	-	グリシン
Ile	-	イソロイシン
Leu	-	ロイシン
Met	-	メチオニン
Nle	-	ノルロイシン
Phe	-	フェニルアラニン
Sar	-	サルコシン(N-メチルグリシン)
Ser	-	セリン
Thr	-	スレオニン
Tyr	-	チロシン

本明細書でペプチド分子の一部として上にあげた任意の特定のアミノ酸を指すときは、そのアミノ酸の二価の基が意味される。例えば、「Gly」は式



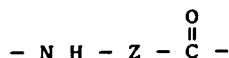
の二価の基を指す。

上にあげたアミノ酸は、グリシンとサルコシンを例外として、それらの $\alpha$ 炭素原子の不斉の為に光学活性である。天然のアミノ酸はL-立体配置である。本明細書で特定のアミノ酸を指すときは、D-立体配置が特定して命名されていない限り、L-立体配置のアミノ酸を指す。例えば、本明細書でSerとはセリンのL-立体配置を指し、一方D-Serは対応するD-立体配置を指す。

この技術で慣習になっているように、本明細書のペプチドの構造は、アミノ末端が見ているものの左側で、カルボキシ末端が見ているものの右側であるように一般に表わされる。そうでないと示されていない限り、本明細書で示されるペプチド

レン基を含む。アルコキシ基は限定されるものではないが、メトキシ、エトキシ、プロピロキシ、イソプロピロキシ、ブチロキシ、ペンチロキシ、ヘキシロキシなど及び対応するアルキレン基を含めたカルボン酸エステルとして式1の化合物中に入れられたヒドロキシ置換アルキル/アルキレン基をその範囲に含んでいる。アシル基は限定されるものではないが、アセチル、ベンゾイル、及びサクシニルなどを含めた特定のアルキル/アルキレン基と共に、基当り1又は2個のカルボニル部分を有するものをその範囲の基として含んでいる。本明細書で「S」という命名は、硫黄原子を指す。

式1の化合物に於いて「A」と命名される1又はそれ以上のアミノ酸は、一般式



(式中Zは $C_{2-24}$ アルキレンである)の1又はそれ以上の二価の基で置き換えられる。

一般に式1の化合物に於いてアミノ酸残基は、独立に置き換えられるか又はアミノ酸残基の連続

は良く知られ、そしてこの技術で認められているように慣用のペプチド結合を通じて結合された指定されたアミノ酸基からなっている。

本明細書で使用される「アルキル」及び「アルキレン」という用語は、それぞれ一又は二価のヒドロカルビル及びヒドロカルビレンを指す。例えば $CH_3CH_2-$ はアルキル基であり、 $-CH_2CH_2-$ は対応するアルキレン基である。アルキル及びアルキレン基、及びアルコキシ又はアシル基のアルキル/アルキレン部分は、それらの範囲内に直鎖、分子鎖又は環状の立体配置の飽和及び不飽和アルキル/アルキレン基を含み、限定されるものではないがメチル、エチル、エテニル、プロピル、イソプロピル、ブチル、ブテニル、イソブチル、第三ブチル、ペンチル、イソペンチル、第二ペンチル、シクロペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、シクロヘキシル、シクロヘキシルメチル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、 $CH_3-(CH_2)_{12}-CH_2-$ 、 $CH_3-(CH_2)_{15}-CH_2-$ 、 $CH_3-(CH_2)_{18}-CH_2-$ 、 $CH_3-(CH_2)_{21}-CH_2-$ など及び対応するアルキ

した一群が単位として置き換えられる。上に同定される二価の基であって、本明細書で「スペーサー」基と呼ばれるものは、アミノ置換カルボン酸であり、慣用のペプチド結合を通じて式1の化合物中に組み込まれている。Z部分は直鎖、分子鎖、又は環状の立体形状の飽和又は不飽和アルキレン部分であり、2~24個の炭素原子から成立っている。一般に置き換えられていないアミノ酸残基のおよそ同じ立体的な関係を保持する為に、置き換えられたアミノ酸又は連続するアミノ酸群の $\alpha$ -N末端から $\alpha$ -カルボキシ末端までの長さと同じN末端からカルボキシ末端長のスペーサー部分でアミノ酸又は連続したアミノ酸群を置き換えるのが好ましい。例えば、二つの連続したアミノ酸の一群を4-アミノ酪酸又は5-アミノペンタン酸の二価の基で置き換えるのが好ましい。そして三つの連続したアミノ酸の一群を7-アミノヘプタン酸又は8-アミノオクタン酸の二価の基で置き換え、四つの連続したアミノ酸を10-アミノデカン酸又は11-アミノウンデカン酸の二価の基で置き換えるなどが

好ましい。そのような構造の化合物は一般に好ましいが、本発明はこれに限定されず置き換えられていないアミノ酸の間の立体的関係が保持されていない化合物も本発明の範囲内にあることが理解される。

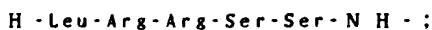
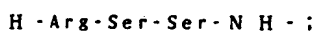
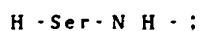
2又はそれ以上の連続したアミノ酸をスペーサー基で置き換えることが望ましいときは、この群を単一のスペーサー基で置き換えるのが好ましい。しかし本発明の範囲内には、上記の方法にかわって連続したアミノ酸群がペプチド結合でそれら自体連結されている2又はそれ以上のスペーサー基で置き換えることも本発明の範囲内に入るものと考えられている。例えば三つの連続したアミノ酸の群を8-アミノオクタン酸部分で置き換えることが好ましいが、これらの残基は又二つの連続した3-アミノプロパン酸部分又は一つの2-アミノ酢酸部分及び一つの4-アミノ酪酸部分でも置き換えることが出来る。もちろん1よりも多くのスペーサー基が組み込まれている式1の化合物は、本発明の範囲内にある。1~4つのスペーサー基が組込ま

れている式1の化合物が一般に好ましい。

本発明は任意の「A」で示されるアミノ酸が存在しない、即ち結合である式1の化合物を提供する。しかし、本発明のこの点は、任意の特許請求された化合物に於いて5未満のそのようなアミノ酸が存在しないものであり得るという条件によって制限されている。

最も広い一般範囲に於いて本発明は「A」で示される任意のアミノ酸がスペーサー基で置き換えられ得る化合物を提供する。しかし、ある化合物の区域に於いてアミノ酸残基又はその誘導体は、ANF受容器に対する効果的な結合を促進する為に存在しなければならないという事が信じられている。ANF受容器に結合することを促進する本発明の化合物の区域は、約A<sub>11</sub>~約A<sub>15</sub>まで、及びA<sub>27</sub>における区域からなると信じられる。従ってA<sub>11</sub>~A<sub>15</sub>と同定されるペプチド部分及びA<sub>27</sub>と同定されるアミノ酸部分が結合でなく、スペーサー基で置き換えられていない式1の化合物が一般に本発明の好ましい具体例である。

一般的な化学化合物がどれでもそうであるように、ある種の基が分子の種々の位置に於いて好ましい。出願人はR<sub>3</sub>が水素又はアミノである式1の化合物が好ましいと考えている。又R<sub>3</sub>が以下のものである式1の化合物も好ましい

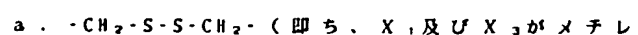


これらはR<sub>3</sub>が水素で、R<sub>3</sub>がアミノ酸又は上に名前を上げたペプチドである化合物である。

さらに通常そうであり、この技術で良く知られているようにR<sub>3</sub>及びR<sub>4</sub>は、各々慣用のアミノ保護基であり得る。これらのアミノ保護基は化学合成段階において第一級アミノ基を保護するのに化学技術において有用であることが知られ、化合物の分解を生じない条件下で容易に除去できるものである。適当なR<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>に対する保護基の例は、

ホルミル、アセチル、トリフルオロアセチル、フタリル、トシル、ベンゼンスルホニル、ベンジロキシカルボニル、置換ベンジロキシカルボニル（例えば、p-クロロ、p-ブromo、p-ニトロ、p-メトキシ、o-クロロ、2,4-ジクロロ、及び2,6-ジクロロ誘導体）、t-ブトキシカルボニル（Boc）、t-アミロキシカルボニル、イソプロピロキシカルボニル、2-(p-ビフェニル)-イソプロピロキシカルボニル、アリロキシカルボニル、シクロペンチロキシカルボニル、シクロヘキシロキシカルボニル、アダマンチロキシカルボニル、フェニルチオカルボニル、及びトリフェニルメチルである。好ましいアミノ保護基はt-ブトキシカルボニル（Boc）である。特定のR<sub>3</sub>及びR<sub>4</sub>で表わされる保護基に対して関与する選択利用及び合成は、化学の技術分野で良く知られている。

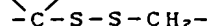
出願人は以下の式1の化合物も好ましいと考えている。-(X<sub>1</sub>)<sub>m</sub>-(S)<sub>n</sub>-(X<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(S)<sub>q</sub>-(X<sub>3</sub>)<sub>t</sub>-で示される二箇の基の結合が、



ンで、 $p$ が0で、 $m$ 、 $n$ 、 $q$ 、 $t$ がそれぞれ1)；

b.  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2-$  (即ち、 $X_1$ 及び $X_3$ がメチレンで、 $X_2$ がエチレンで、 $n$ 及び $q$ が0で、 $m$ 、 $p$ 、 $t$ が1である)；

c.



(即ち、 $X_1$ が1,1-シクロペンチレンで、 $X_3$ がメチレンで、 $p$ が0で、 $m$ 、 $n$ 、 $q$ 、 $t$ が1)；

d.  $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$  (即ち、 $X_1$ 及び $X_3$ がメチレンで、 $X_2$ がエチレンで、 $m$ 、 $n$ 、 $p$ 、 $q$ 、 $t$ が1である)；

e.  $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{S}-\text{S}-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$  (即ち、 $X_1$ 及び $X_3$ がイソプロピレンであり、 $p$ が0であり、 $m$ 、 $n$ 、 $q$ 、 $t$ が1である)；

f.  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  (即ち、 $X_1$ 及び $X_3$ がエチレンであり、 $p$ が0であり、 $m$ 、 $n$ 、 $q$ 、 $t$ が1である)；

又一般的に次のアミノ酸残基がスペーサー基で置き換えられていないときには、示された位置で

$A_{24}$ がAsn又はGln；

$A_{25}$ がSer；

$A_{26}$ がPhe、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルPhe、又はD-Phe；

$A_{27}$ がArg、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルArg、D-Arg；

$A_{28}$ がTyr、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルTyr、D-Tyr；

である。

表1に特定して同定された式1の化合物は、本発明の特に好ましい具体例である。しかし表1は本発明の範囲内である化合物の排他的なリストを与えるものではなく、単に特に好ましい化合物の代表のリストを与えるものである。

表 1

Apaは5-アミノペンタン酸を指す

Aoaは8-アミノオクタン酸を指す

Auaは11-アミノウンデカン酸を指す

N-MeはN-メチルである (例えば、N-Me-Ile<sub>15</sub>はN-メチルイソロイシンの15の位置にあるものを指す)。

ANFはrANF又はhANFを指す

名前をあげた各々の化合物に対し、Yはアミノ、ヒドロキシ、メトキシ又はエトキシである

存在する式1の化合物が好ましい。

$A_8$ がPhe、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルPhe、又はD-Phe；

$A_9$ がGly又はAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又はAla、又はD-Ala；

$A_{10}$ がGly；

$A_{11}$ がArg；

$A_{12}$ がIle、Nle、又はMet；N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Ile、-Nle、-Met；D-Ile、D-Nle、D-Met；

$A_{13}$ がAsp又はGlu；

$A_{14}$ がArg；

$A_{15}$ がIle、Nle、又はMet；N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Ile、-Nle、-Met；D-Ile、D-Nle、D-Met；

$A_{16}$ がGly又はAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキル-Gly又はAla、又はD-Ala；

$A_{17}$ がAla、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルAla、又はD-Ala；

$A_{18}$ がGln又はAsn；

$A_{19}$ がSer又はThr；

$A_{20}$ がGly又はAla；

$A_{21}$ がLeu、N-置換 $C_{1-4}$ アルキルLeu、又はD-Leu；

$A_{22}$ がGly又はAla；

「基本構造」は、式1のこれらの化合物が添字によって示されている位置に於いて、rANF又はhANFと同じアミノ酸から成り立っている事を示している。例えば、「ANF<sub>8,10-28</sub>」は、この化合物が $A_8$ 及び $A_{10}$ から $A_{28}$ の位置におけるrANF又はhANFについて知られたのと同じアミノ酸から成り立っていることを示し、 $R_1$ 、 $R_2$ 及び $(X_1)_m-(S)_n-(X_2)_p-(S)_q-(X_3)_t$ は、その表に特定して名前をあげている。スペーサー基のなんであるかが示されており、それらの位置は添字によって同定されている。例えば「Aoa<sub>17-19,20-22</sub>」は、この化合物が二つの8-アミノオクタン酸スペーサー基を含有しており、一つは $A_{17}$ から $A_{19}$ の位置に、そして一つは $A_{20}$ から $A_{22}$ の位置にあることを示している。

表 1

化合物No.	基本構造	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	(X <sub>1</sub> ) <sub>m</sub> -(S) <sub>n</sub> -(X <sub>2</sub> ) <sub>p</sub> -(S) <sub>q</sub> -(X <sub>3</sub> ) <sub>t</sub>	スベーパー基
1	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>8-10</sup>
2	ANF <sub>8-10</sub> , 20-22	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>9-11</sup>
3	ANF <sub>8-14</sub> , 18-26	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>15-17</sup>
4	ANF <sub>8-14</sub> , 18-26	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>16-18</sup>
5	ANF <sub>8-16</sub> , 20-26	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>17-19</sup>
6	ANF <sub>8-16</sub> , 20-26	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>20-22</sup>
7	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
8	ANF <sub>8-16</sub> , 20-22	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>17-18</sup> , 20-22
9	ANF <sub>11-16</sub> , 23-27-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>8-10</sup> , 17-19, 20-22, 24-26
10	ANF <sub>11-16</sub> , 23-27-28	H	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>8-10</sup> , 17-19, 20-22, 24-26
11	ANF <sub>8-11</sub> , 15, 23, 27-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>9-10</sup> , Aoa <sup>10-16</sup> , 24-26, Aua <sup>10-22</sup>
12	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Leu-Arg-Arg-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
13	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Leu-Arg-Arg-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
14	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Arg-Arg-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
15	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Arg-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
16	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>

表 1

化合物No.	基本構造	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	(X <sub>1</sub> ) <sub>m</sub> -(S) <sub>n</sub> -(X <sub>2</sub> ) <sub>p</sub> -(S) <sub>q</sub> -(X <sub>3</sub> ) <sub>t</sub>	スベーパー基
17	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	NH <sub>2</sub> -	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
18	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
19	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
20	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
21	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
22	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
23	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
24	ANF <sub>8-23</sub> , 21-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>24-26</sup>
25	ANF <sub>11-14</sub> , 16, 18-19, 23-27-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>8-10</sup> , 20-22
26	ANF <sub>11-14</sub> , 16, 18-19, 23-27-28	H	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>8-10</sup> , 18-19, 24-26, Aua <sup>10-22</sup>
27	ANF <sub>11-14</sub> , 16, 18-19, 23-27-28	H	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>8-10</sup> , Aoa <sup>10-16</sup> , 24-26, Aua <sup>10-22</sup>
28	ANF <sub>11-14</sub> , 16, 18-19, 23-27-28	H-Ser-Ser-NH-	H	-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Aos <sup>8-10</sup> , 18-19, Aua <sup>20-22</sup>

本発明の化合物は、この技術の熟達者に容易に知られ得る種々の手順で製造できる。その様な手順には固相シーケンシャル及びブロック合成、溶液相シーケンシャル及びブロック合成、遺伝子クローニング及びこれらの技術の組み合わせが含まれる。固相シーケンシャル法は、自動化されたペプチド合成機の使用など、確立された自動化方法を用いて実施できる。この手順に於いてアミノ保護アミノ酸がカルボキシ末端に於いて樹脂支持体に結合され、ペプチド結合を望んでいるアミノ位置に於いてアミノ酸が脱保護され、そして次のアミノ保護アミノ酸が所望の配列で、ペプチド結合で連結される。脱保護及び結合段階は、所望のポリペプチドが合成されるまで繰り返される。本発明の化合物は、このようにそれらのカルボキシ末端から、それらのアミノ末端へ合成される。アミノ保護アミノ酸は、慣用のアミノ酸であり得、又はそれらの誘導体又は異性体又はスベーパー基であり得る。使用される樹脂支持体は、ポリペプチドの固相製造について、この技術で慣用的に用い

られる任意の適当な樹脂であり得る。好ましい樹脂は、約0.5～約3パーセントのジビニルベンゼンで架橋されているポリスチレンであり、これは最初に導入されたアミノ保護アミノ酸と共にアミド又はエステル形成のための位置を提供する為にベンズヒドリルアミド化されているか、クロロメチル化されているか又はヒドロメチル化されているかである。

ヒドロキシメチル樹脂の例は、ボダンスキーらによって記載されている〔Chem. Ind. (ロンドン) 38, 1597-98 (1966)〕。クロロメチル及びベンズヒドリルアミン樹脂の製造は、スチュワートらによって記載されている〔「固相ペプチド合成」第二版、ピアース ケミカル カンパニー、イリノイ州ロックフォード (1984)、第2章、54～55頁〕。これらの樹脂の多くは市販されている。一般にペプチドのカルボキシ末端に望まれるアミノ保護アミノ酸は、この技術で良く知られ認められているように標準の手順及び実施方法を用いて樹脂に結合される。例えば、アミノ保護アミノ酸

ジロキシカルボニル、*p*-メトキシベンジロキシカルボニル、*p*-ニトロベンジルカルボニル、*p*-ブロモベンジルオキシカルボニル、1-(*p*-ビフェニル)-1-メチルエトキシカルボニル、 $\alpha$ ,  $\alpha$ -ジメチル-3,5-ジメトキシベンジロキシカルボニル、及びベンズヒドリロキシカルボニル、(3)脂肪族ウレタン保護基、例えば第三ブトキシカルボニル (Boc)、ジイソプロピルメトキシカルボニル、イソプロピロキシカルボニル、エトキシカルボニル、及びアリロキシカルボニル、(4)シクロアルキルウレタン型保護基、例えばシクロペンチロキシカルボニル、アダマンチロキシカルボニル、及びシクロヘキシルロキシカルボニル、(5)チオウレタン型保護基、例えばフェニルチオカルボニル、(6)アルキル型保護基、例えばトリフェニルメチル (トリチル) 及びベンジル (Bzl)、及び(7)トリアルキルシラン保護基、例えばトリメチルシランがある。好ましい $\alpha$ -アミノ保護基は第三ブチロキシカルボニル (Boc) である。アミノ酸の $\alpha$ -アミノ保護基としてBocを使用することはボダン

スキンの手順によって樹脂に結合させることができる〔Helv. Chem. Acta, 56, 1478 (1973)〕。樹脂結合位置としてベンズヒドリルアミン部分を含有している樹脂を使用することが望まれるときには、アミノ保護アミノ酸はその $\alpha$ -カルボン酸及び樹脂のアミノ部分の間のアミド結合を通じて樹脂に結合される。この結合は、以下に記載される標準の結合手順を使用して実施される。多くの樹脂に結合したアミノ酸は市販されている。

ポリペプチド配列中に導入される各アミノ酸に使用される $\alpha$ -アミノ保護基は任意のこの技術で知られた保護基であり得る。考慮に入れられる $\alpha$ -アミノ保護基の類の中でも、(1)アシル型保護基、例えばホルミル、トリフルオロアセチル、フタリル、*p*-トルエンスルホニル (トシル)、ベンゼンスルホニル、ニトロフェニルスルフェニル、トリチルスルフェニル、*o*-ニトロフェノキシアセチル、及び $\alpha$ -クロロブチリル、(2)芳香族ウレタン型保護基、例えばベンジルオキシカルボニル及び置換ベンジルオキシカルボニル、例えば

-クロロベン

スキー等によって「ペプチド合成の実施」、スプリングー・フェルラーグ、ベルリン(1984)20頁に記載されている。

樹脂支持体にアミノ保護アミノ酸を結合した後で、任意の適当な手順、例えばトリフルオロ酢酸、ジクロロメタン中のトリフルオロ酢酸、又はジオキサラン中のHClを用いるなどにより $\alpha$ -アミノ保護基が除去される。この脱保護は0℃と室温の間の温度で実施される。この技術で良く知られ認められている条件下で特定の $\alpha$ -アミノ保護基を除去するために、他の標準の保護試薬を使用できる。

$\alpha$ -アミノ保護基を除去した後、次の所望のアミノ保護アミノ酸がペプチド結合を通じて連結される。この脱保護及び連結手順を、所望の配列のポリペプチドが得られるまで繰り返す。別の方法として複数のアミノ酸基を樹脂支持アミノ酸配列物に連結する前に、溶液方法によって連結することができる。

適当な結合試薬の選択はこの技術の通常の知識を有する者が行い得る範囲内である。加えられる

アミノ酸がGln、Asn又はArgである場合に特に適した結合試薬は、N,N-ジイソプロピルカルボジイミド及び1-ヒドロキシベンゾトリアゾールである。これらの試薬の使用は、ニトリル及びラクタム形成を防止する。他の結合試薬は(1)カルボジイミド類、例えばN,N-ジシクロヘキシルカルボジイミド及びN-エチル-N'-( $\alpha$ -ジメチルアミノ)プロピルカルボジイミド、(2)シアナミド類、例えばN,N-ジベンジルシアナミド、(3)ケテンイミン類、(4)イソキサゾリウム塩(例えばN-エチル-5-フェニルイソキサゾリウム-3-スルホネート、(5)環中に1~4個の窒素を含有している芳香族性の単環式窒素含有複素環アミド類、例えばイミダゾリド類、ピリゾリド類及び1,2,4-トリアゾリド類である。有用である特定の複素環アミド類にはN,N-カルボニルジイミダゾール、及びN,N-カルボニル-ジ-1,2,4-トリアゾール、(6)アルコキシル化されたアセチレン(例えばエトキシアセチレン)、(7)アミノ酸のカルボニル部分と混合無水物を形成する試薬、例えばエチルクロロホルメート及びイソプ

チルクロロホルメート、又は結合されるべきアミノ酸の対称無水物(例えばBoc-Ala-O-Ala-Boc)、及び(8)一つの環の窒素上にヒドロキシ基を有している窒素含有複素環化合物(例えばN-ヒドロキシフタルイミド、N-ヒドロキシコハク酸イミド及び1-ヒドロキシベンゾトリアゾール)が含まれる。ペプチド結合に使用される他の活性化試薬及びそれらの用途はカプーラ(Kapoor)、J. Pharm. Sci. 59, 1~27頁(1970)に記載されている。本発明で使用されるアミノ酸に対し、一般的に好ましい連結方法は、連結剤として対称性の無水物を使用することである。

Gln、Asn及びArgに対する好ましい連結方法は、保護されたアミノ酸又は誘導体又は、その異性体を樹脂又は樹脂結合アミノ酸又はペプチドの存在下でN,N-ジメチルホルムアミド(DMF)中のN,N-ジシクロヘキシルカルボジイミド及び1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(1:1)と反応させることである。他のアミノ酸又はスパーサー基に対する好ましい連結方法は、保護されたアミノ酸又は誘

導体又はその異性体をジクロロメタン中のN,N-ジシクロヘキシルカルボジイミドと反応させ、対称な無水物を形成することを含む。対称性の無水物を次に樹脂又は樹脂結合アミノ酸又はペプチドを含有している固相反応器に導入し、そして連結をDMF又はジクロロメタン又はDMF:ジクロロメタン(1:1)の媒体中で実施する。DMFの媒体が好ましい。各合成の段階に於ける連結反応の成功は、カイザーらによって記載されるようにニンヒドリン試験によってモニターされる〔Analyt. Biochem. 34, 595(1970)〕。不完全な連結が生じた場合には、連結手順を繰り返す。連結がそれでも不完全な場合には、適当なカップリング試薬で脱保護されたアミンをカップし、その持続する合成を防止する。適当なカップリング試薬及びその使用は、この技術で良く知られ、認められている。適当なカップリング試薬の例は、スチューワートらによって記載されるように無水酢酸及びアセチルイミダゾールである〔「固相ペプチド合成」、第二版、ピアース ケミカル カンパニー、イリ

ノイ州ロックフォード(1984)、第2章、73頁〕。

所望のアミノ酸配列が得られた後、ペプチドを樹脂から開裂させる。これはこの技術で良く知られ、認められている手順、例えば樹脂に対するエステル又はアミド結合の加水分解によって実施できる。ペンズヒドリルアミン樹脂からペプチドを開裂するには、ジメチルサルファイド、p-クレゾール、チオクレゾール、又は無水フッ化水素中のアニソールの溶液で行なうのが好ましい。開裂反応は、好ましくは0℃と約室温との間の温度で実施するのが好ましく、約5分~約5時間の間続けるのが好ましい。

固相ペプチド合成の技術で良く知られているようにアミノ酸の多くは側鎖官能基を有しており、ペプチドの製造の間、保護を必要とする。適当なこれらの側鎖官能基に対する保護基の選択及び使用は、この技術の熟達者の能力の範囲内であり、保護されるべきアミノ酸、ペプチド中の他の保護されたアミノ酸残基の存在に依存する。そのような側鎖保護基の選択は、合成の脱保護及び連結段

障の間に除去されてはならないという意味で、臨界的である。例えば、Bocが $\alpha$ -アミノ保護基として使用されるときは、次の側鎖保護基が適している。p-トルエンスルホニル (tosyl) 部分は、Lys及びArgなどのアミノ酸のアミノ側鎖を保護するのに使用できる。p-メチルベンジル、アセタミドメチル、ベンジル (Bzl)、又はt-ブチルスルホニル部分はシステイン、ホモシステイン、ペニシラミンなど又はこれらの誘導体などのアミノ酸の硫フイド含有側鎖を保護するのに使用できる。ベンジル (Bzl) 又はシクロヘキシルエステル部分は、AspやGluなどのアミノ酸のカルボン酸側鎖を保護するのに使用できる。ベンジル (Bzl) エーテルは、Ser及びThrなどのアミノ酸のヒドロキシ含有側鎖を保護するのに使用できる。2-ブromoカルボベンゾキシ (2Br-Z) 部分は、Tyrなどのアミノ酸のヒドロキシ含有側鎖を保護するのに使用できる。これらの側鎖保護基は、この技術で良く知られた標準の実施方法及び手順に従って加えられ、除去される。これらの側鎖保護基を、無水フ

ッ化水素中のアニソールの溶液 (1:10) で脱保護するのが好ましい。典型的には側鎖保護基の脱保護は、ペプチド鎖合成が完了した後実施されるが、これらの基はそれ以外にも任意の他の適当な時間において除去され得る。これらの側鎖をペプチドが樹脂から開裂されると同じ時刻に脱保護するのが好ましい。

樹脂からペプチドを開裂した後、本発明で $-(X_1)_m-(S)_n-(X_2)_p-(S)_q-(X_3)_t-$ として同定される橋が、適当な部分の側鎖をこの技術で良く知られているように標準の手順及び実施方法に従って共有結合させることによって形成する。例えば、 $-CH_2-S-S-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-S-S-CH_2-CH_2-$ 、及び $-C(CH_3)_2-S-S-C(CH_3)_2-$ などのジスルフィド結合は、スチューワートらによって記載されるように適当な硫フイドを酸化することによってなされる (「固相ペプチド合成」、第二版、ピアースケミカルカンパニー、イリノイ州ロックフォード (1984)、95頁)。 $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$ などのアルキル結合は、米国特許第4,161,521に記載される

ように実施される。pが1である結合、例えば $-CH_2-S-CH_2-CH_2-S-CH_2-$ などは、モスベルグらによって記載されるように実施される (JACS 107, 2986-87 (1985))。上記の手順の記載は、本明細書に参照によって組み入れる。

所望のアミノ酸、アミノ酸の誘導体類及びそれらの異性体類及びスパーサー基は、市販されているか又はこの技術で良く知られた標準の実施方法及び手順に従って合成できる。

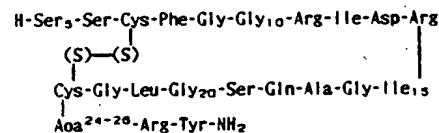
本発明の化合物の製造をより十分に説明する為に次の実施例が与えられる。実施例は単に説明するだけのものであって、本発明の範囲を制限する意図のものでは決していない。

#### (実施例)

##### 実施例 1

[Aoa<sup>24-26</sup>] rANF<sub>5-23, 27-28</sub>-NH<sub>2</sub>の製造

[Aoa<sup>24-26</sup>] rANF<sub>5-28</sub>-NH<sub>2</sub>は構造的には以下の様に表わされる。



即ち、基本構造はrANF<sub>5-23, 27-28</sub>である。R<sub>1</sub>はH-Ser-Ser-NH<sub>2</sub>であり、R<sub>2</sub>はHであり、 $-(X_1)_m-(S)_n-(X_2)_p-(S)_q-(X_3)_t-$ は $-CH_2-S-S-CH_2-$ であり、スパーサー基はAoa<sup>24-26</sup>であり、Yは-NH<sub>2</sub>である。

このペプチドの合成は、固体支持体としてp-メチルベンジルヒドリルアミン樹脂 (2%ジビニルベンゼン/ペプチドインターナショナル) を用いて、アブライド バイオシステム インコーポレーテッドによって供給される自動化されたペプチド合成機を用いて、標準の固相ペプチド合成方法に基づいている。 $\alpha$ -アミノ保護基としてBocを、そして側鎖ヒドロキシ保護基として2Br-Zを有しているTyrの対称無水物を保護されたTyrをジクロロメタン中のN,N-ジシクロヘキシルカルボジイミドと反応させることによって形成した。ジクロロメタンをDMFに対して過剰しこみした。対称性の無水



溶液を、樹脂を含有している固相反応器に導入し、反応が完了するまで混合することによって保護されたTyrを樹脂に連結させた。その無水物は約2倍過剰で存在すべきである。保護されたTyrの $\alpha$ -アミノ保護基を樹脂に結合したTyr誘導体をトリフルオロ酢酸と反応させることによって除去した。保護されたArgをDMF中の樹脂結合Tyr誘導体の存在下に於いてN,N-ジシクロヘキシルカルボジイミド/1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(1:1)と反応させることによって、 $\alpha$ -アミノ保護基としてBocを、そして側鎖アミノ保護基としてp-トルエンシルホニル(tosyl)を有しているArgを樹脂結合Tyr誘導体に連結させた。同様の方法で、ペプチドN末端の $\alpha$ -アミノ保護基の脱保護に続いて連結を行なう上記と同じ手順に従って、 $\alpha$ -アミノ保護基としてBocをすべて有している次のアミノ酸を樹脂結合ペプチドにその順序で連結した：

Aoa; Cys、側鎖スルフィド保護基としてp-メチルベンジルを保持；Gly；Leu；Gly；Ser、側鎖ヒドロキシ保護基としてBzlエーテルを保持。

ペプチドをゲルろ過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、透析及び逆相高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)によって精製した。

高速原子衝突マススペクトル(FAB-MS)：(M+H)<sup>+</sup>=2341；

アミノ酸分析(%)：Asp(0.73)；Glu(0.91)；Ser(2.78)；Gly(5.15)；Ala(1.01)；Arg(3.01)；Tyr(0.98)；Ile(1.95)；Leu(0.97)；Phe(0.93)；Aoa(1.01)。

同様の方法で、次のペプチドが製造された：

[Aoa<sup>8-10</sup>] rANF<sub>5-7,11-28</sub>-NH<sub>2</sub>：

FAB-MS：(M+H)<sup>+</sup>=2427；アミノ酸分析(%)：Asp(1.24)；Glu(0.88)；Ser(3.72)；Gly(3.16)；Ala(1.07)；Arg(3.01)；Tyr(0.95)；Ile(1.95)；Leu(0.94)；Phe(0.98)；Aoa(1.07)。

[Aoa<sup>17-19</sup>] rANF<sub>5-10,20-28</sub>-NH<sub>2</sub>：

FAB-MS：(M+H)<sup>+</sup>=2404；アミノ酸分析(%)：Asp(1.31)；Ser(2.88)；Gly(5.18)；Arg(2.95)；Tyr(1.00)；Ile(2.03)；Leu(0.9

持；Gln；Ala；Gly；Ile；Arg、側鎖アミノ保護基としてトシルを保持；Asp、側鎖カルボン酸保護基としてシクロヘキシルエステルを保持；Ile；Arg、側鎖アミノ保護基としてトシルを保持；Gly；Gly；Phe；Cys、側鎖スルフィド保護基としてp-メチルベンジルを保持；Ser、側鎖ヒドロキシ保護基としてBzlエーテルを保持；Ser、側鎖ヒドロキシ保護基としてBzlエーテルを保持。

DMF中のジシクロヘキシルカルボジイミド/1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(1:1)をArg、Asn及びGln誘導体を樹脂結合ペプチドに結合させる連結剤として使用した。ジシクロヘキシルカルボジイミドを全てのアミノ酸誘導体の対称無水物の形成のために使用した。

ペプチドを樹脂から開裂し、側鎖保護基を樹脂結合ペプチドを無水フッ化水素中のアニソール溶液(1:10)と反応させることによって除去した。ジスルフィドブリッジを非保護ペプチドをフェシアン化カリウムで酸化することによって形成した。

9)；Phe(1.94)；Aoa(0.70)

[Aoa<sup>20-22</sup>] rANF<sub>5-10,23-28</sub>-NH<sub>2</sub>：

FAB-MS：(M+H)<sup>+</sup>=2462；アミノ酸分析(%)：Asp(0.98)；Ser(3.77)；Asn(0.63)；Gly(2.91)；Glu(0.85)；Arg(2.99)；Tyr(1.02)；Ile(2.33)；Phe(2.20)；Aoa(0.97)

[Aoa<sup>15-17</sup>] rANF<sub>5-14,18-28</sub>-NH<sub>2</sub>：

FAB-MS：(M+H)<sup>+</sup>=2447；アミノ酸分析(%)：Asp(1.77)；Glu(0.96)；Ser(3.62)；Gly(4.21)；Arg(2.91)；Tyr(0.98)；Ile(0.77)；Leu(1.01)；Phe(2.11)；Cys(1.96)；Aoa(0.80)

[Aoa<sup>10-18</sup>] rANF<sub>5-15,19-28</sub>-NH<sub>2</sub>：

FAB-MS：(M+H)<sup>+</sup>=2433；アミノ酸分析(%)：Asp(1.97)；Ser(4.08)；Gly(4.45)；Arg(2.96)；Tyr(0.95)；Ile(1.24)；Leu(0.98)；Phe(1.92)；Cys(1.46)；Aoa(0.26)

[Aoa<sup>8-10,17-19,20-22,24-26</sup>] rANF<sub>5-7,11-10,23,27-28</sub>-NH<sub>2</sub>：

FAB-MS：(M+H)<sup>+</sup>=1988；アミノ酸分析(%)：

Asp (0.81) ; Ser (1.82) ; Gly (1.03) ; Arg (3.00) ; Tyr (0.96) ; Ile (1.74) ; Cys (1.94) ; Aoa (3.07)

本発明の他の具体例に於いて、体液、電解質、血圧、眼圧、リーニン又はアルドステロン恒常性における異常によって特徴付けられる病気症状、例えば限定されるものではないが、高血圧症、腎臓病、過アルドステロン症、心臓肥大、緑内障及び鬱血性心不全にかかっている患者の治療が提供される。この治療は、患者に治療上有効量の式1の化合物又は製薬上受け入れられるその無毒の塩を投与することからなる。本明細書で「患者」という用語は、温血動物、例えば哺乳類であって、上に定義された病気の症状に苦しめられているものを指す。犬、猫、ネズミ、マウス、馬、牛、羊及び人は、この用語の意味の範囲内の動物の例であることが理解される。治療上有効量とは、単一又は複数投与したとき、体液、電解質、リーニン、アルドステロン、眼圧、血圧のパラメータにおける異常を、病気にかかっている患者中で有意義に

くの因子の関数である。任意の特定の状況に対する正しい量は、慣用の範囲決定技術及び他の状況下で観測される類似の結果を用いて当業者に容易に決定され得る。従って、上記の投与範囲は単位例示されるだけのものであって本発明の範囲を限定する意図のものでは決してない。

別の具体例として、本発明は式1の化合物を患者に投与する為の製剤を提供する。これらの製剤は1又はそれ以上の式1の化合物の治療上有効量を1又はそれ以上の製薬上受け入れられる担体と組み合わせたものからなる。そのような組成物は、製薬科学分野で良く知られた慣用の方法を用いて製造される。本発明の組成物を作るに当って式1の化合物は通常は担体と混合されるか、又は担体で希釈されるか、又は担体内に包み込まれ、担体はカプセル、サシェー又は他の容器の形態であり得る。式1の化合物が1又はそれ以上担体によって共に混合されるか又はそれによって希釈されるときは、そのような担体は固体、半固体又は液体であり得、これらは式1の化合物の賦形薬又は媒

変え、そしてこれらのパラメータの1又はそれ以上をより正常な値に戻すような量である。

上記の病気の症状にかかっている患者の治療を実施するにあたり、式1の化合物は経口及び非経口経路を含めた効果的な量に於いて化合物を生物に利用できるようにするような任意の方法で投与できる。例えば、式1の化合物は経口的、皮下的、筋肉内、静脈内、経皮膚、鼻内、直腸内などによって投与できる。非経口投与が一般に好ましい。

式1の化合物の治療上有効量は、約0.5マイクログラム/キログラム体重/日 ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ) ~ 約50ミリグラム/キログラム体重/日 ( $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ ) まで変化し得る。

治療上有効な投与量は、限定されるものではないが、哺乳類の種、その大きさ、年齢、一般的な健康状態、関与される特定の病気、病気の症状の併発又はひどさ、個々の患者の応答、投与される特定化合物、投与方法、投与される製剤の生物利用特性、選ばれる投与レジメン、同時に投与される薬物の使用及び他の関連する環境を含めた数多

体として作用する。従って、組成物は、錠剤、粉末、ロゼンジ、サシェー、カシェー、エルキジル、乳化剤、溶液、シロップ、ゲル、エアロゾル（固体又は液体媒体中）、軟膏、軟質及び硬質ゼラチンカプセル、座薬、滅菌注射溶液、及び滅菌パッケージ粉末の形態であり得る。

適当な担体、賦形薬及び希釈剤の幾つかの例には、乳糖、デキストロース、蔗糖、ソルビトール、マニトール、澱粉、アラビアゴム、燐酸カルシウム、アルギン酸塩、珪酸カルシウム、微結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、トラガカント、ゼラチン、シロップ、メチルセルロース、メチル-及びプロピルヒドロキシベンゾエート、滑石、ステアリン酸マグネシウム、水及び鉱油が含まれる。処方では追加的に潤滑剤、湿潤剤、乳化及び懸濁剤、保存剤、甘味剤、香味剤、又は着色剤を含み得る。本発明の組成物は、この技術で良く知られた標準の方法及び実施方法を用いて患者に投与した後に、式1の化合物の即時放出、持続放出又は遅延放出を与えるように処方するこ

とが出来る。

経口投与の為には、式1の化合物は担体及び希釈剤と混合され錠剤に成型されるか、又はゼラチンカプセルに封入される。混合物は別の方法として10%グルコース水溶液、等張塩水、滅菌水、などの液体中に溶解され、そして静脈内又は注射によって投与できる。そのような溶液は、もし望まれるならば凍結乾燥され、準備のできた筋肉内注射の為の滅菌水を添加すれば戻すことの出来る用意の出来た滅菌アンプル中に貯蔵することが出来る。

組成物は好ましくは各々の投与物が約 $5\mu\text{g}$ ～約 $1000\text{mg}$ 、より普通には約 $10\mu\text{g}$ ～約 $100\text{mg}$ の式1の化合物の1又はそれ以上を適当な製薬担体と組み合わせて含有している単位投与形に処方するのが好ましい。「単位投与形」という用語は、人及び他の患者に対し、単一の投与物として適した、物理的に別々の単位を指す。各単位は、単一投与又は複数投与レジメンの一部として投与されたときに、治療上効果的な量を与えるように計算された

位置に対する解離定数( $K_D$ )にほぼ等しいある量のヨウ素化された( $^{125}\text{I}$ )  $\text{rANF}_{1-28}$ の存在下で培養することができる。種々の濃度における式1の化合物によって $^{125}\text{I}$ - $\text{rANF}_{1-28}$ がANF特異性結合位置から置き換えられる量は、平衡に於いて組織に対して結合したままでいる $^{125}\text{I}$ の量を測定することによって決定できる。これらのデータは、試験される特定の組織ホモゲネートに対する式1の化合物の $K_i$ を計算する為に使用できる。一般に、 $K_i$ は結合位置に対する試験化合物の親和性に対し、逆比例する。任意のANF-特異的受容器に対して約 $500\text{nM}$ 未満の $K_i$ を有する式1の化合物は、一般に好ましい。任意のANF-特異受容器に対し、約 $50\text{nM}$ 未満の $K_i$ を有する式1の化合物は特に好ましい。もちろん受容器結合検定の結果は、検定系の温度、使用pH、検定系の試験化合物の溶解度、培養時間、使用される $^{125}\text{I}$ -ANFの濃度、天然の使用ANFペプチド、検定の種類、組織の源などを含めた種々の因子に依存することが理解される。この技術で良く知られ、認められているように標準の実施方法

1又はそれ以上の式1の化合物の予め決められた量を含有する。

天然のペプチド $\text{rANF}_{1-28}$ 及びその断片は、生体外方法を用いて血管の平滑筋細胞、腎臓の皮質細胞、副腎の球状帯細胞、肺組織及び脳組織を含めた種々の組織中の膜上のANF特異性結合位置に結合することが示された。一般にそのような場所の結合は、少なくとも部分的には生体内でANFがその生物活性を発揮する機構を反映していると信じられている。式1の化合物は又はANF特異性結合位置に結合すると信じられる。式1の化合物の特定の組織中に於けるANF特異性結合位置に対するインビトロ結合親和性は、この技術で良く知られ、認められている標準の実施方法及び手順を用いて、標準の受容器結合検定を通じて測定することが出来る。例えば、ナビヤらの方法(Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 81: 5946-50, 1984)及びバックら(サイエンス、226: 987-89, 1984)の方法がある。例えば、組織ホモゲネートを異なる濃度の式1の化合物と共に、高親和性、特異的ANF結合

及び手順と一致する検定パラメータが一般に好ましい。

出願人 メレルダウ ファーマスーティカルズ  
インコーポレーテッド

代理人 弁理士 佐々井弥太郎

(外1名)

第1頁の続き

⑤Int.Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

A 61 K 37/02

A B U

8615-4C

A C V

// C 07 K 99:00

優先権主張

⑫1988年2月1日⑬米国(U S)⑭151,060

⑮発明者

ジョン ティー, ペル  
トン

フランス国 ストラスバーク 67000 ル マルナー 3

⑯発明者

ステファン エイチ.  
バックアメリカ合衆国 45215 オハイオ州 シンシナチ リー  
ズ レーン ウェスト 6818